

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **04026631 A**  
 (43) Date of publication of application: **29.01.1992**

(51) Int. Cl **A61K 45/00**

A61K 31/335, A61K 31/35, A61K 31/365

(21) Application number: **02130208**(22) Date of filing: **22.05.1990**(71) Applicant: **NIPPON KAYAKU CO LTD**

(72) Inventor: **YAMASHITA TAKUMI  
KAWAI YURIE  
AOONO MASAKO  
SHIMADA NOBUYOSHI**

**(54) SUPPRESSING AGENT OF  
VASCULARIZATION****(57) Abstract:**

**PURPOSE:** To obtain a suppressing agent of vascularization containing a substance having breath-inhibiting action and oxidative phosphorylation-inhibiting action as an active ingredient.

**CONSTITUTION:** The aimed agent contains a substance having breath-inhibiting action and oxida-

tive phosphorylation-inhibiting action, e.g. rutamycin, antimycin A, piericidin, rotenone, triiodotyrosine, oligomycin A, B, C, D or E, anthractylocide, carbonylcyanide-m-chlorophenylhydrazone or dicyclohexyl carbodiimide as an active ingredient. Administering amount of said suppressing agent is in the range of 0.1-50mg/kg per 1 day for non-oral administration and 0.5-50mg/kg per 1 day for oral administration.

**COPYRIGHT:** (C)1992,JPO&Japio

## ⑫ 公開特許公報 (A) 平4-26631

⑬ Int. Cl.<sup>5</sup>A 61 K 45/00  
31/335  
31/35  
31/365

識別記号

A B G  
A B N

庁内整理番号

8415-4C  
7252-4C  
7475-4C  
7475-4C

⑭ 公開 平成4年(1992)1月29日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 血管新生抑制剤

⑯ 特 願 平2-130208

⑰ 出 願 平2(1990)5月22日

⑱ 発明者 山下巧 東京都北区神谷3-10-8-323  
 ⑲ 発明者 河合友利江 東京都板橋区小茂根1-9-18-201  
 ⑳ 発明者 青野雅子 東京都杉並区本天沼2-6-10  
 ㉑ 発明者 嶋田信義 東京都北区志茂2-9-10  
 ㉒ 出願人 日本化薬株式会社 東京都千代田区富士見1丁目11番2号

## 明細書

骨、大動脈壁の粗抽出液等が知られている。

(発明が解決しようとする課題)

上記の如くの血管新生抑制作用を有する物質は種々の障害により、医薬品として実用化されているものは無く、新たな血管新生抑制剤の開発が期待されている。

## 〔課題を解決するための手段〕

そこで発明者らは種々検討した結果、ルタマイシン、アンチマイシンA、ピエリシジン、オリゴマイシンA、B、C、D、E等の呼吸阻害作用及び酸化的リン酸化阻害作用を有する物質が血管新生抑制作用を有する事を見出した。尚、本発明における呼吸とは細胞における酸素消費、炭酸ガス発生を伴う代謝、即ち内呼吸を指す。

本発明は上記知見に基づき完成されたものである。呼吸阻害作用及び酸化的リン酸化阻害作用を有する物質としては、ルタマイシン、アンチマイシンA、ピエリシジン、ロテノン、トリヨードチロシン、オリゴマイシンA、B、C、D、E、アントラクチロシド、カルボニルシアニド-*m*-ーク

## 1) 発明の名称

血管新生抑制剤

## 2) 特許請求の範囲

1.呼吸阻害作用及び酸化的リン酸化阻害作用を有する物質を有効成分とする血管新生抑制剤。

## 3) 発明の詳細な説明

## (産業上の利用分野)

本発明は呼吸阻害作用及び酸化的リン酸化阻害作用を有する物質を有効成分とする血管新生抑制剤に関するものであり、医薬品としては、血管の異常増殖を伴う疾病、例えばリュウマチ性関節炎、糖尿病性網膜症、未熟児網膜症、老人性黄斑部変性、創傷治癒時の過剰瘢痕形成および細胞の異常増殖に対する予防または治療薬として期待される。

## (従来の技術)

血管新生抑制作用を有する物質としては、例えばプロタミン、インドメサシン、メドロキシプロゲステロン、コーチゾンとヘパリンの併用、牛軟

ロロフェニルヒドラゾン、ジシクロヘキシルカルボジイミド等が挙げられる。

本有効成分が血管新生抑制剤として用いられる場合は、単独または賦形剤あるいは担体と混合して注射剤、経口剤または座剤などとして投与される。賦形剤および担体としては薬剤学的に許容されるものが選ばれ、その種類および組成は投与経路や投与方法によって決まる。例えば液状担体として、アルコールもしくは大豆油、ビーナッツ油、ゴマ油、ミネラル油等の動植物油、または合成油が用いられる。固体担体としてマルトース、シュクロースなどの糖類、アミノ酸類、ヒドロキシプロピルセルロースなどセルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウムなどの有機酸塩類などが使用される。注射剤の場合一般に各種緩衝液、グルコース、イノシトール、マンニトール等の糖類溶液、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等のグリコール類が望ましい。また、イノシトール、マンニトール、グルコース、マンノース、マルトース、シュクロース

等の糖類、フェニルアラニン等のアミノ酸類の賦形剤と共に凍結乾燥剤とし、それを投与時に注射用の適当な溶剤、例えば滅菌水、生理食塩水、ブドウ糖液、電解質溶液、アミノ酸液等に溶解して投与することもできる。

製剤中における本有効成分の含量は製剤により種々異なるが通常 0.1~50重量%、好ましくは 1~10重量%である。例えば、注射液の場合には、通常 0.1~5重量%の本有効成分を含むようにすることがよい。経口投与する場合には、前記固体担体もしくは液状担体とともに錠剤、カプセル剤、粉剤、顆粒剤、液剤、ドライシロップ剤等の形態で用いられる。カプセル、錠剤、顆粒、粉剤の場合は一般に本有効成分の含量は約 3~50重量%、好ましくは 5~50重量%であり、残部は担体である。

投与量は、患者の年令、体重、症状、治療目的等により決定されるが、治療量は一般に非経口投与で 0.1~50 mg/kg・日、経口投与で 0.5~50 mg/kg・日である。

- 3 -

- 4 -

## 〔作用〕

次に本有効成分の薬理作用を試験例により説明する。

## 試験例 1.

呼吸阻害作用及び酸化的リン酸化阻害作用を有する物質の代表として、オリゴマイシン A、B、C、アンチマイシン A およびビエリシジンの内皮細胞に対する増殖抑制作用を検討した。

牛副腎の毛細血管内皮細胞を  $1 \times 10^4$  個/穴の割合で 6 穴テストプレートに接種し、1 日後上記化合物を種々な濃度で培養液に添加した。添加 3 日後細胞数をコールターカウンターにより測定し、各薬物の種々の濃度における血管内皮細胞の増殖抑制率を求めた。

結果を表 1、2 および 3 に示した。オリゴマイシン A、B、C、アンチマイシン A およびビエリシジンの  $IC_{50}$  値はそれぞれ 0.84, 1.42, 4.44, 5.81, 2.24 ng/ml であり、内皮細胞に対し強い増殖抑制作用を示した。

表 1. オリゴマイシン A および B の種々の濃度における血管内皮細胞の増殖抑制率

濃度 (ng/ml)	増殖抑制率 (%)	
	Oligomycin A	Oligomycin B
0.10	-3.2	-1.0
0.30	0.0	23.7
0.89	54.6	39.7
2.7	57.7	64.3
8.0	64.2	69.0
24.0	69.3	70.3

表2. オリゴマイシンCおよびアンチマイシンAの種々の濃度における血管内皮細胞の増殖抑制率

濃度 (ng/ml)	増殖抑制率(%)	
	Oligomycin C	Antimycin A
0.10	1.1	-17.5
0.30	16.0	-1.0
0.89	23.7	14.2
2.7	41.4	30.6
8.0	60.2	58.2
24.0	67.3	77.0

表3. ピエリシジンの種々の濃度における血管内皮細胞の増殖抑制率

濃度 (ng/ml)	増殖抑制率 (%)
0.10	-2.7
0.30	10.4
0.89	17.4
2.7	57.4
8.0	59.0
24.0	64.9

### 試験例2.

鶏受精卵の糞尿膜内の血管新生に対するオリゴマイシンA、B、C、アンチマイシンAおよびピエリシジンの抑制作用を D. H. Ausprung らの方法 (American Journal of Pathology 97, 597,

- 7 -

- 8 -

1975)を用いて検討した。

9日前の鶏の受精卵の卵殻に10 mm<sup>2</sup>四方の小窓を開け、糞尿膜上に上記化合物 0.01 ~ 100 μg/mlを含有する直径3 mm のグラスファイバーディスクを設置後、ピニールテープで小窓を封じた。これを37°Cの孵卵器に入れ、5日後に糞尿膜内に新生される血管に対する上記化合物の抑制作用の程度を観察した。

その結果、これら化合物の0.01 μg/ml投与群で軽度な、10 μg/ml以上の投与群で強い血管新生抑制作用が観察された。特にアンチマイシンAおよびピエリシジンでは10 μg/ml以上の投与群で完全な抑制作用が観察された。

### 試験例3

家兎角膜内でのオリゴマイシンA、B、C、アンチマイシンAおよびピエリシジンの血管新生に対する抑制作用を M. A. Gimbrone らの方法 (Journal National Cancer Institute 52, 413, 1974)を用いて検討した。

家兔の角膜中央部をメスを用いて約2 mm切開し、角膜壁に沿ったポケットをつくり、これにあらかじめ R. Langer らの方法 (Nature 263, 797, 1979) で作製したプロスタグラジンE<sub>1</sub> 1 μg またはエリッヒ癌粗抽出物100 μg を含有する除放性ペレットを挿入、設置した。更にあらかじめ作製しておいた上記化合物 0.1~1000 μg を含有する製剤例3の除放性ペレットをプロスタグラジンE<sub>1</sub> またはエリッヒ癌粗抽出物の除放性ペレットに接して設置し、設置後4、6および8日目に血管新生の程度を観察した。

その結果、プロスタグラジンE<sub>1</sub> またはエリッヒ癌粗抽出物によって新生される血管に対し、検討した総ての化合物の 1 μg/pellet以上の投与群でその伸長が用量に依存して抑制された。その抑制の程度はオリゴマイシンC < A = B < ピエリシジン < アンチマイシンAの順であり、アンチマイシンAは100 μg/pellet以上で、ピエリシジンは1000 μg/pelletで完全な抑制が見られた。

(効果)

以上の結果から、ルタマイシン、アンチマイシンA、ピエリシン、オリゴマイシンA、B、C、D、E等の呼吸阻害作用及び酸化的リン酸化阻害作用を有する物質は血管新生に対する抑制作用を有し、新規血管新生抑制剤として期待される。

製剤例 1

本有効成分50重量部、乳糖600部、結晶セルロース330部およびヒドロキシプロビルセルロース20部をよく混和し、ロール型圧縮機（ローラーコンパクター<sup>®</sup>）を用いて圧縮し、破碎して16メッシュと60メッシュの間に入るよう篩過し、顆粒とした。

製剤例 2.

本有効成分30重量部、結晶乳糖120部、結晶セルロース147部およびステアリン酸マグネシウム3部をV型混合機で混和後、打綻し、1錠300mgの錠剤を得た。

製剤例 3.

本有効成分10重量部を10%濃度の塩化メチレン—エチレンビニール酸共重合液100部に混和し、次いでこの混合液をドライアイスで冷却したガラス板上に滴下して凍結乾燥し、除放性ペレットとした。

特許出願人 日本化薬株式会社